Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. E. Kern

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUM VORKOMMEN UND ZUR ENTSTEHUNG SPEZIFISCHER ANTIGAMMA-GLOBULINE BEI GESUNDEN

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Michael Fietzek
aus Berlin

Würzburg, den 23.11.1971

1972

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. E. Kern

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUM VORKOMMEN UND ZUR ENTSTEHUNG SPEZIFISCHER ANTIGAMMA-GLOBULINE BEI GESUNDEN

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Michael Fietzek
aus Berlin

Würzburg, den 23.11.1971

Referent: Priv. Doz. Dr. med. D. Wiebecke

Korreferent: Professor Dr. med. E. Kern

Dekan: Professor Dr. med. K. -H. Weis

Tag der mündlichen Prüfung: 20. 4. 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung und Aufgabenstellung	1
B. Theoretische Grundlagen	2
1. Das Gammaglobulinmolekül	2
2. Entdeckungsgeschichte und Systematik der Antigammaglobuline und ihrer korrespondierenden Antigendeterminanten	4
3. Nachweis der Gammaglobulinfaktoren	9
C. Material und Methodik	12
D. Ergebnisse	15
E. Diskussion	25
F. Zusammenfassung	34
G. Literaturverzeichnis	I-VI

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543512_0095

A. EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG

Wie GRUBB und LAURELL (15) mit der Entdeckung des Faktors Gm(1) 1956 erstmalig zeigen konnten, werden die Gammaglobuline des Menschen von hereditären, gruppenspezifischen Merkmalen geprägt.

Chemisch gesehen handelt es sich dabei um das Vorhandensein ganz bestimmter Aminosäuresequenzen (Oligopeptide) auf den H- bzw. L-Ketten der Gammaglobulinmoleküle (s. u.). Diese Merkmale besitzen zumindest teilweise isoantigenen Charakter, und so bildet der Organismus gegen sie zuweilen Antikörper, die sog. spezifischen Antigammaglobuline. Deren Nachweis erfolgt mit Hilfe einer relativ diffizilen serologischen Technik (s. u.).

Mit der vorliegenden Arbeit sollte zunächst einmal geprüft werden, inwieweit die Chance, solche Antigammaglobuline aufzufinden, verändert wird, wenn man die Nachweismethodik in ganz bestimmter Weise variiert. Gleichzeitig sollten die Frequenzen ermittelt werden, mit denen verschiedene Antigammaglobuline bei Anwendung einer ganz bestimmten Suchtechnik in der gesunden Normalbevölkerung nachzuweisen sind.

Anhand einer weiteren Versuchsserie sollte schließlich die Hypothese überprüft werden, derzufolge die Entstehung von Antigammaglobulinen durch eine praenatale, diaplazentare Immunisierung des Foeten durch mütterliches Gammaglobulin verursacht werden kann.

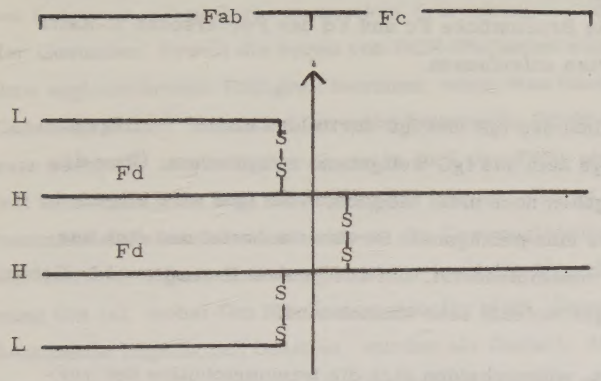
B. THEORETISCHE GRUNDLAGEN

1. Das Gammaglobulinmolekül

Der Terminus "Gammaglobulin" umfaßt nach heutigem Sprachgebrauch sämtliche Globuline mit Antikörperfunktion und geht damit über die ursprüngliche Definition hinaus. Er wird synonym mit dem Begriff "Immunglobulin" gebraucht. Entsprechend ihrer unterschiedlichen antigenen Wirksamkeit gegenüber Versuchstieren lassen sich die Gammaglobuline in fünf Hauptklassen aufteilen, die mit IgA = γA, IgG = γG, IgM = γM, IgD = γD und IgE = γE bezeichnet werden. Von ihnen ist das IgG am weitesten erforscht. Seine molekulare und antigene Struktur soll hier kurz erläutert werden.

Nach dem klassischen Modell von PORTER (27) besteht das γG-Molekül aus zwei schweren oder H-Ketten (heavy chains) und zwei leichten oder L-Ketten (light chains), die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Deren Zahl wurde ursprünglich auf fünf veranschlagt. Spätere Erkenntnisse ergaben, daß es sich um drei handeln müsse (Abb. 1). Durch Papain wird das Molekül in drei Bruchstücke, nämlich in zwei sog. Fab-Fragmente und ein sog. Fc-Fragment gespalten.

Die Fab-Fragmente tragen u. a. die Antikörperhaftstellen (fragment antibody). Sie bestehen aus je einer L-Kette und dem sogenannten Fd-Teil der H-Kette.
Das Fc-Fragment (fragment crystallizable), welches sich aus den gleichnamigen Bruchstücken der beiden H-Ketten zusammensetzt, besitzt keine L-Ketten.



Spaltung durch Papain

Abbildung 1: Schematische Darstellung des γG-Moleküls (nach Porter)

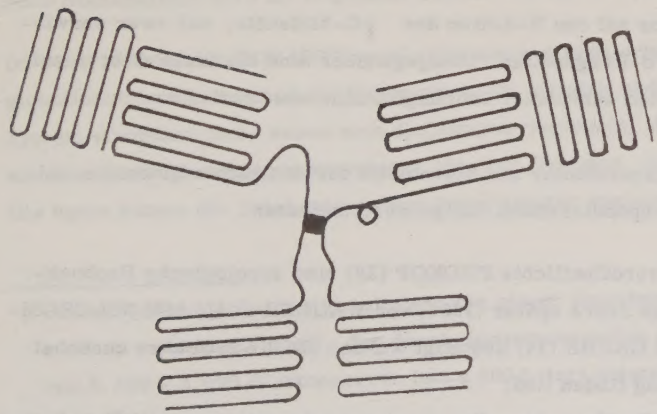


Abbildung 2: Modell eines γG-Moleküls (nach Noelken et al.)

Im Gegensatz zur Konzeption von PORTER postulieren NOELKEN et al. (25) für das native IgG ein 6-Ketten-Modell, wie es Abb. 2 zeigt. Ihrer Ansicht nach sind die Bruchstücke Fc und Fd der Porterschen H-Kette als selbständige Ketten aufzufassen.

Der molekulare Aufbau des IgA und IgD dürfte den bisher vorliegenden Informationen zufolge dem des IgG weitgehend entsprechen. Über das IgE sind genaue Angaben noch nicht möglich. Vom IgM wird allgemein angenommen, daß es eine pentagonale Struktur aufweist und sich aus fünf Untereinheiten zusammensetzt, die aus je zwei H- und zwei L-Ketten bestehen und dem IgM Molekül sehr ähnlich sind.

Wie bereits erwähnt, unterscheiden sich die Immunglobuline der verschiedenen Klassen in ihrer qualitativen antigenen Wirksamkeit gegenüber bestimmten Versuchstieren. Diesem Phänomen liegt eine unterschiedliche Beschaffenheit der zugehörigen H-Ketten zugrunde. Demgegenüber trifft man bei allen Immunglobulinen immer die gleichen Typen von L-Ketten an, welche mit κ - oder λ - bezeichnet werden.

Was die Lokalisation der weiter unten zu erörternden hereditären Gammaglobulinpolymorphismen anbetrifft, so finden sich die Merkmale des Gm- und ISf-Systems auf den H-Ketten der γG-Moleküle, und zwar vorwiegend auf den Fd-Fragmenten. Demgegenüber sind die Inv-Faktoren auf den κ-L-Ketten sämtlicher Immunglobuline anzutreffen.

2. Entdeckungsgeschichte und Systematik der Antigammaglobuline und ihrer korrespondierenden Antigendeterminanten

Im Jahr 1953 veröffentlichte PROKOP (28) eine serologische Beobachtung, die einige Jahre später (1956) von WALLER et al. (49) MILGROM et al. (24) und GRUBB (14) bestätigt wurde, für die sich aber zunächst keine Erklärung finden ließ:
O Rh positive Erythrocyten, die mit einem inkompletten Anti-Rh beladen worden waren, wurden durch bestimmte Seren über ihren Supplementtiter hinaus agglutiniert.

GRUBB (14) fand solche "agglutinierenden Seren" in 15, 7 % bei Kranken, die an primär chronischer Polyarthritis (PCP) litten, seltener (in 4, 5 %) bei Patienten mit nichtrheumatischen Erkrankungen und nur bei 0, 3 % der Gesunden. Soweit die Seren von PCP-Patienten stammten, ließ sich ihre agglutinierende Fähigkeit hemmen, wenn man ihnen gepooltes Gammaglobulin+) zusetzte. Derselbe hemmende Effekt trat auch bei Zusatz normaler menschlicher Seren in 60 % der Fälle ein. Zusammen mit LAURELL (15) fand GRUBB später heraus, daß es sich bei dem hemmenden Serumfaktor um eine an die Gammaglobulinfraktion gebundene, erbliche Eigenschaft des Menschen handelt. Sie erhielt die Bezeichnung Gm (a), wobei Gm für Gammaglobulin steht. Seren, welche die hemmende Eigenschaft besaßen, wurden als Gm(a+), die nicht hemmenden als Gm(a-) bezeichnet. Familienuntersuchungen ergaben einen autosomalen, dominanten, mit den Mendel'schen Regeln im Einklang stehenden Erbgang des neuen Faktors.

In den folgenden Jahren wurden zahlreiche weitere solcher Gm-Faktoren entdeckt. Sie wurden zunächst mit Buchstaben benannt, werden heute aber, einem Vorschlag der WHO (9) folgend, mit fortlaufenden arabischen Ziffern bezeichnet: (Gm(a) = Gm(1); Gm(x) = Gm(2) etc. Diese neue Nomenklatur wird im folgenden benutzt werden.

Im Jahr 1961 fanden ROPARTZ et al. (32) ein weiteres erbliches Gammaglobulinmerkmal, welches sie Inv nannten. Da Inv sich nicht in das Gm-System einordnen ließ, sahen sich die Autoren veranlaßt, die Existenz eines weiteren Serumgruppensystems, des Inv-Systems, zu postulieren. Bis heute konnte die Existenz von drei Inv-Faktoren gesichert werden.

+) Dieses Gammaglobulin stammt nicht von einem einzelnen Spender, sondern aus einem "pool", der durch Zusammengießen des Plasmas von 2. 500 - 3. 000 Blutkonserven (etwa 600 Liter) entsteht.

Ein drittes und bisher letztes System hereditärer Gammaglobulinfaktoren wurde ebenfalls von ROPARTZ et al. (33) 1967 erstmalig beschrieben. Sie bezeichneten den neu entdeckten Faktor, der sich schon nach den ersten Analysen als völlig unabhängig von den bisher bekannten Gammaglobulinfaktoren erwies, als ISf (= Immunglobulin San Franzisco).

Wie bereits erwähnt, stammten die meisten der von GRUBB (14) beschriebenen agglutinierenden Seren von Rheumatikern.

Von diesen Seren nehmen wir mit STEINBERG (45) heute allgemein an, daß sie zwei Komponenten enthalten:

1. den Rheumafaktor, einen heterospezifischen Antikörper, der im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter von Interesse ist,
2. ein weiteres kreuzreagierendes Antigammaglobulin von Iso- und bisweilen Autospezifität, das sowohl gegen einen oder mehrere der oben genannten Faktoren gerichtet ist, als auch kreuzreagierende Rheumafaktor-Aktivität aufweist. Einem Vorschlag STEINBERG's (45) folgend, werden Seren dieses Typs mit dem Kunstnamen "Ragg" bezeichnet (rheumatoid agglutinators).

Aber auch im Serum von Gesunden bzw. nicht-rheumatisch Erkrankten ließen sich Antigammaglobuline nachweisen (s. u.), die einerseits charakteristische Gemeinsamkeiten mit den Raggs aufwiesen, in anderen Punkten aber deutlich von ihnen unterschieden waren. Diese Seren werden heute allgemein gemäß einem Vorschlag von ROPARTZ (35) als "SNagg" bezeichnet (Serum normal agglutinant).

Soweit Raggs oder SNaggs Gruppenspezifität aufweisen (d. h. sich durch Normalseren mit dem korrespondierenden Antigen hemmen lassen), können sie unter dem Oberbegriff "Spezifische Antigammaglobuline" zusammengefaßt werden.

Die serologischen Unterschiede zwischen diesen beiden Antikörpertypen sind folgende:

1. Ragg Seren sind häufig polyspezifisch, während SNagg Seren fast ausschließlich monospezifisch reagieren.

2. Ragg Seren weisen neben einem höheren Titer häufig ein Prozonenphänomen auf, während dies bei den in der Regel niedertitrigen SNaggs nur als Ausnahme beobachtet wird.

3. Ragg Seren unterscheiden zwischen Gm(+) und Gm(-) quantitativ. So imponiert z. B. ein Probandenserum vom Typ Gm(-1), je nachdem, ob man es einem Ragg-Testsystem in einer ganz bestimmten Verdünnung, oder aber unverdünnt zusetzt, einmal als Gm(-1), das andere mal als Gm(1). SNagg-Seren reagieren dagegen qualitativ, d. h. sie werden ein Gm(-1) Serum unabhängig von seinem Verdünnungsgrad auch als Gm(-1) nachweisen.
   Aus diesem Grunde werden Ragg Seren heute nur noch ausnahmsweise verwendet.

4. Ragg Seren erscheinen manchmal als Autoantikörper, z. B. Anti-Gm(1) bei einem Gm(+1)-Individuum. Dies wurde bei SNaggs bisher noch nicht beobachtet.

5. Während Ragg Seren keine charakteristische Temperaturamplitude besitzen, reagieren die SNaggs in der Regel am besten im niedrigen Temperaturbereich.

6. Raggs finden sich nur in der Fraktion der 19-S-Gammaglobuline, während die SNagg Antikörper gelegentlich auch als 7-S vorkommen.

1956 fanden GRUBB (14) und MILGROM et al. (24) unabhängig voneinander bei einigen Nichtrheumatikern und einem Gesunden "agglutinierende Seren", die sich von den o. g. Antiglobulinen mehrfach unterschieden. Sie hatten niedrigere Titer, bildeten zartere Agglutinate als die Raggs und ließen sich vor allem im Gegensatz zu Raggs und SNaggs weder durch Normal-

seren noch durch gepooltes Gammaglobulin hemmen. GRUBB bezeichnete sie zunächst als "non rheumatoid arthritic typ agglutinating sera". Die von MILGROM et al.(24) gefundenen Seren reagierten ähnlich: Sie ließen sich wie die von GRUBB beschriebenen ebenfalls weder durch Normalseren, noch durch natives, homologes Anti-D, noch durch gepooltes menschliches Gammaglobulin hemmen, wohl aber durch immunologisch denaturiertes Gammaglobulin, zum Beispiel durch Eluate des homologen Anti-D-Serums, d. h. durch Antikörper, die artefiziell von ihrem Antigen wieder abgespalten werden, nachdem eine Antigen-Antikörper-Reaktion stattgefunden hat.
MILGROM gab diesen Antigammaglobulinen, die nach seinen Angaben mit jedwedem Anti-D reagierten, sofern es nur immunologisch denaturiert war, die Bezeichnung Antiantikörper.

1963 berichtete ANDRESEN (2) über Antiantikörper, die sich von den durch MILGROM beschriebenen insbesondere dadurch unterschieden, daß sie nicht mit jedwedem immunologisch denaturierten Anti-D reagierten, sondern jeweils nur mit solchen, die einem bestimmten Gm-Phänotyp z. B. Gm(+1) angehörten.

Heute werden die "unspezifischen" Antiantikörper in solche vom "Milgrom"- und vom Andresen-Typ unterschieden, je nachdem ob sie mono- oder polyspezifisch reagieren. Auf Grund neuerer Erkenntnisse läßt sich diese Unterteilung in einer solch einfachen Form zwar nicht mehr aufrechterhalten, bis zum Vorliegen einer neuen, umfassenderen Einteilung wird sie jedoch beibehalten.

Eine weitere Klasse von Antigammaglobulinen bilden schließlich die von OSTERLAND et al. (26) 1963 erstmals beschriebenen Papain-Agglutinatoren, die gegen proteolytische Spaltprodukte der menschlichen Gammaglobuline gerichtet sind. Da sie zu der vorliegenden Arbeit jedoch keine Beziehung haben, soll auf sie hier nicht weiter eingegangen werden.

Über den Entstehungsmechanismus der spezifischen Antigammaglobuline bestand lange Zeit Unklarheit, bis STEINBERG und unabhängig von ihm SPEISER eine Gesetzmäßigkeit entdeckten, die diesen Vorgang in den meisten Fällen erklärt. „Voraus gingen Beobachtungen von FÜNFHAUSEN und SCHNEEWEISS (11) und SANDER und STICHNOTH (38) aus dem Jahr 1963. Sie hatten festgestellt, daß sich spezifische Anti-Gm-Antikörper bei Kleinkindern ab 6 Monaten wesentlich häufiger nachweisen ließen als bei Erwachsenen. Eine Erklärung hierfür suchten sie zunächst in möglicherweise sensibilisierenden Impfungen (BCG, Pocken, Poliomyelitis) zu finden.

SPEISER (39, 40, 43) konnte im gleichen Jahr den Nachweis erbringen, daß diese Erklärung unzutreffend ist. Er schloß zunächst die Annahme von SANDER und STICHNOTH aus, indem er nachwies, daß keine Antigengemeinschaft zwischen Gm-Faktoren und den genannten Impfstoffen bestand. Darüber hinaus fand er Kinder als Anti-Gm-Träger, die nie geimpft worden waren, bei denen eine Impfung als Ursache für die Antikörper-Bildung also von vornherein ausfiel. Übereinstimmend mit STEINBERG vertrat er die Ansicht, daß die spezifischen Antigammaglobuline als Folge einer materno-foetalen Sensibilisierung durch mütterliches Gammaglobulin entstehen, eines Vorganges also, der entgegengesetzt dem Erythroblastosemechanismus verläuft.

Das diesem Vorgang zu Grunde liegende Prinzip wird heute allgemein als "Steinberg-Speiser-Phänomen" bezeichnet. Hierauf wird an anderer Stelle (s. S. 28) noch näher eingegangen werden.

3. Nachweis der Gammaglobulinfaktoren

Der Nachweis der Gammaglobulin-Faktoren erfolgt mit Hilfe des Hämagglutinationshemmtestes, dessen Prinzip am Beispiel des Gm(1)-Nachweises unter Bezugnahme auf die nebenstehende schematische Abbildung hier kurz erläutert werden soll:

Stufe 1:

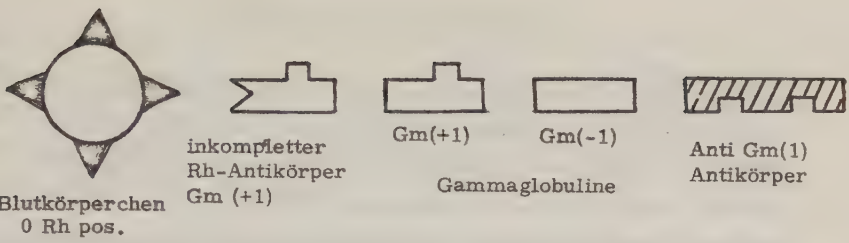
O Rh-positive Erythrocyten werden mit einem inkompletten Anti-D-Serum, dessen Eignung durch einen Vorversuch gesichert wurde, beladen. Sie werden anschließend dreimal gewaschen, um alles freie Eiweiß aus dem Reaktionsgemisch zu entfernen. Durch Auffüllen mit physiologischer NaCl-Lösung wird schließlich eine etwa 1, 5 %ige Suspension hergestellt.

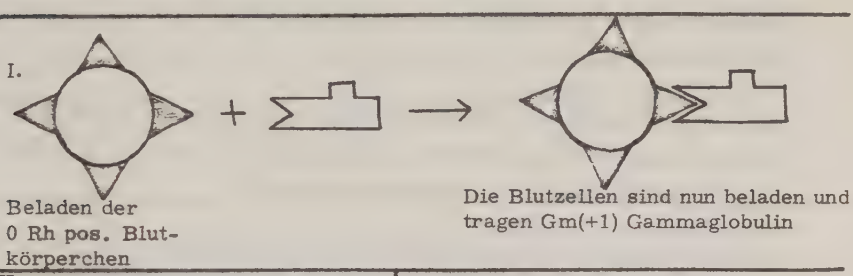
Stufe 2:

Ein Tropfen des zu testenden Serums wird mit einem Tropfen eines Anti-Gm(1)-Serums vermischt, nachdem in einem Vorversuch die optimale Verdünnung des letzteren festgestellt wurde. Handelt es sich bei dem zu testenden Serum um eines vom Typ Gm(+1), so kommt es zu einer Antigen-Antikörperreaktion, als deren Folge das Anti-Gm(1) neutralisiert bzw. "gehemmt" wird und somit für die weitere Reaktion ausscheidet. Andernfalls bleibt es unbeeinflußt im Reaktionsgemisch vorhanden.

Stufe 3:

Nach kurzer Zeit werden die beladenen Erythrocyten dem Gemisch aus dem zu testenden Serum und dem Anti-Gm(1)-Serum zugegeben: Bei vorausgegangener Hemmung des Anti-Gm(1) kommt es zu keiner Agglutination, andernfalls tritt Agglutination ein. Ein "hemmendes Serum" ist somit positiv in Bezug auf den gesuchten Faktor, in unserem Fall Gm(+1), ein nicht hemmendes negativ, hier Gm(-1).


Blutkörperchen
0 Rh pos.
inkompletter
Rh-Antikörper
Gm (+1)
Gm(+1)
Gm(-1)
Gammaglobuline
Anti Gm(1)
Antikörper


I.
Beladen der
0 Rh pos. Blut-
körperchen
Die Blutzellen sind nun beladen und
tragen Gm(+1) Gammaglobulin

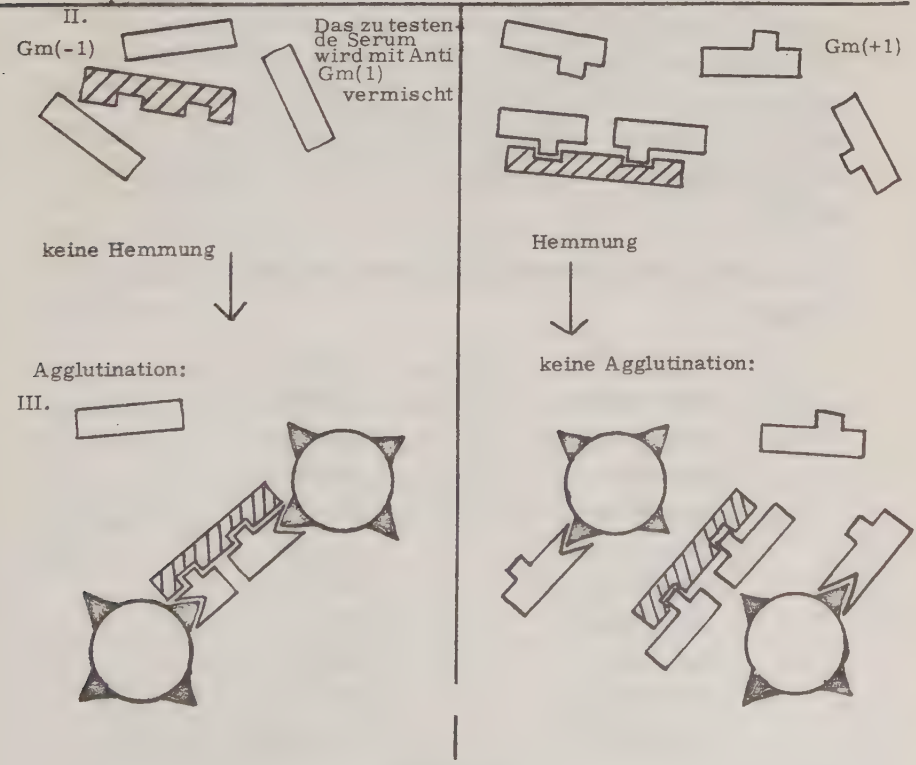

II.
Gm(-1)
Das zu testende Serum wird mit Anti Gm(1) vermischt
Gm(+1)
keine Hemmung
Hemmung
Agglutination:
keine Agglutination:
III.

ABBILDUNG 3

C. MATERIAL UND METHODIK

Die Seren von 2. 000 Blutspendern wurden auf das Vorhandensein von Anti-Gm- und Anti-Inv-Antikörpern untersucht. Die hierzu benötigten Blutproben stammten zum größten Teil (1. 700) aus der Blutspendezentrale der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg, d. h. von ortsansässigen Dauerspendern oder sporadisch spendenden Bundeswehrsoldaten der umliegenden Garnisonen, zum kleineren Teil (300) aus Spendeterminen des BRK.

Die Serumproben wurden zur besseren Konservierung mit Natriumacid versetzt und bei -20° C aufbewahrt. Sie wurden in einem Zeitraum von 2 bis 18 Monaten nach ihrer Entnahme bearbeitet.

Die Erythrocyten, welche wir für den Hämagglutinationshemmtest verwendeten, stammten von Blutspendern der Gruppe O R_1R_2. Nach dreimaligem Waschen wurden 1, 5 ml Sediment mit 0, 2 ml des entsprechenden Anti-D-Serums und 0, 6 ml NaCl (0, 9 %) für 2 Stunden in ein Wasserbad von 37°C inkubiert und alle 15 Minuten aufgeschüttelt. Nach wiederum dreimaligem Waschen wurde eine etwa 1, 5 %ige saline Suspension hergestellt.

Folgende Anti-D-Seren wurden dabei zum Beladen der Erythrocyten verwendet:

Anti-D-Gm (1)	Nr.	64 (Bi)
Anti-D-Gm (1)	"	615 (Bi)
Anti-D-Gm (2)	"	38007 (Mo)
Anti-D-Gm (2)	"	612 (Bi)
Anti-D-Gm (2)	"	8004 (Mo)
Anti-D-Gm (5)	"	611 (Bi)
Anti-D-Gm (5)	"	9002 (Mo)
Anti-D-Gm (5)	"	9003 (Mo)
Anti-D-Inv (1)	"	51702 (Bi)
Anti-D-Inv (1)	"	50003 (Mo)
Anti-D-Inv (1)	"	0003 (Mo)

Die Spenderseren wurden einmal unverdünnt, zum zweiten in einer salinen 1:4 Verdünnung untersucht. Ein Tropfen des zu testenden Serums und ein Tropfen sensibilisierter Erythrocyten wurden dabei auf einer Porzellan-Tüpfelplatte miteinander vermischt. Das Gemisch blieb zwei Stunden zugedeckt bei Raumtemperatur stehen.

Das anschließende Ablesen der Ergebnisse erfolgte nach einmaligem Hin- und Herneigen der Platten. Die Stärke der Agglutinationen wurde von $\pm$ bis +++ bewertet. Seren, die geringere als einfach positive Agglutinationen zeigten, wurden für die weiteren Untersuchungen sowie für die Statistik nicht mit herangezogen.

Die Ausdifferenzierung der Antiglobuline wurde folgendermaßen durchgeführt: Ein Tropfen des antikörperhaltigen Serums wurde in der Verdünnung, die beim Suchtest die stärkere Agglutination gezeigt hatte, mit einem Tropfen des entsprechenden 1:4 verdünnten Anti-D-Serums zusammengegeben. Dieses Gemisch blieb 5 Minuten bei Zimmertemperatur stehen und wurde anschließend mit einem Tropfen entsprechend beladener Erythrocyten versetzt. Soweit sich die Antiglobuline durch das homologe Anti-D hemmen ließen, wurden sie als spezifisch angesehen, andernfalls als Antiantikörper. Die weitere Differenzierung der spezifischen Antiglobuline erfolgte mit Hilfe eines Panels bekannter Referenzseren.

Zur Überprüfung des Steinberg-Speiser-Phänomens wurden die Seren der Mütter von 20 Anti-Gm(1)-Trägern und von 14 Anti-Inv(1)-Trägern mit Hilfe der oben beschriebenen Hämagglutinationshemmungstechnik auf ihren Gm- und Inv-Phänotyp untersucht. Hierzu wurden folgende, von Herrn Dr. Ropartz freundlicherweise überprüften Systeme verwendet:

Faktor	Antiglobulin		Anti-D
Gm (1)	SNagg	1258	615
Gm (2)	SNagg	223686	38007
	SNagg	150585	38007
Gm (4)	SNagg	324206	9003
Gm (12)	SNagg	1598	611
Inv (1)	SNagg	408518	0003
	SNagg	1000	2273

D. ERGEBNISSE

Unter 2. 000 Seren fanden sich 179 (182)+) Antiglobuline = 8, 95 % (9, 1 %). Davon waren 26 (29) spezifisch, und zwar wiesen 15 (18) Seren Anti-Gm(1) Aktivität auf = 0, 75 % (0, 9 %) und 11 Anti-Inv(1) Aktivität = 0, 55 %. Anti-Gm(2)- und Anti-Gm(5)-Seren wurden nicht gefunden.

Tab. I zeigt die Verteilung der gefundenen Anti-Gm(1) auf die verschiedenen Anti-D-Seren, die zur Auffindung benutzt wurden. Man erkennt die erheblichen Variationen in der Häufigkeit, je nach verwendetem Anti-D und nach der Verdünnung, in der die Probandenseren untersucht worden sind: Von den 15 Anti-Gm(1) reagierten 7 Seren mit Erythrocyten, die sowohl mit Anti-D-Gm(1) 64 als auch mit Anti-D-Gm(1) 615 sensibilisiert wurden. Serum 113 386 reagierte nur mit Anti-D-Gm(1) 615, die 7 restlichen nur mit Anti-D-Gm(1) 64.

Diese Verhältnisse werden nur leicht verschoben, wenn die Seren mit Titerverlust in das Endergebnis mit einbezogen werden. In diesem Falle würden 8 Seren nur mit Anti-D-Gm(1) 64 reagieren und 1 Serum nur mit Anti-D-Gm(1) 615. Diesen 9 nur mit einem Anti-D reagierenden Anti-Gm(1) Seren stünden 9 gegenüber, die gleichzeitig mit den beiden Anti-D reagierten. Von den 8 Anti-Gm(1) Seren, die nur von jeweils einem der Anti-D aufgefunden wurden, reagierten 4 nur in der Verdünnung 1:1, 2 nur 1:4 (Prozonenphänomen ?) und 2 bis zu einem Titer von 1:16 (Serum 5400 und 6921).

Von den 7, die mit beiden Anti-D reagierten, hatten 3 einen Titer bis 1:16, 2 bis 1:8, 1 bis 1:4 und lediglich 1 Serum reagierte nur unverdünnt, ebenso alle 3 in Klammern angegebenen Seren. Serum 5933 zeigte eine Reaktion nur mit einem, die restlichen 2 mit beiden im Suchtest eingesetzten Anti-D-Seren.

Die oben beschriebenen Zuordnungsschwierigkeiten trafen bei den Anti-Inv-Seren nicht auf. Wie Tabelle II zeigt, wurden 11 Antiseren gefunden, von denen 2 nur mit Anti-D-Inv 51702 und 2 nur mit Anti-D-Inv 5003 reagierten. Von den restlichen 7 reagierten 3 gleichzeitig mit 2 verschiedenen Anti-D-Inv und 4 mit jedem der 3 verwendeten.

+) Die in Klammern angeführten Werte berücksichtigen auch die Seren, die bei einer späteren Kontrolluntersuchung einen erheblichen Titerverlust aufwiesen. Sie reagierten bei der Differenzierung zwar noch eindeutig, aber nur mit Agglutinationen, deren Stärke nicht über (+) hinausging.

Tabelle I:

Gefundene Anti-Gm(1) Seren und ihre Reaktionsbereitschaft mit den zwei verschiedenen Anti-D-Gm(1) in Abhängigkeit von ihrer Verdünnung.

Unter dem kräftig durchgezogenen Strich sind die Seren mit Titerverlust (s. Text) angeführt.

In den schraffierten Kästchen stehen die Titer der Seren.

Reaktion

Serum Nr.	nur mit Anti-D-Gm(1) 64			nur mit Anti-D-Gm(1) 615			Mit Anti-D-Gm(1) 64 + Anti-D-Gm(1) 615		
	Nur 1:1	Nur 1:4	1:1 + 1:4	Nur 1:1	Nur 1:4	1:1 + 1:4	Nur 1:1	Nur 1:4	1:1 + 1:4
4221		1:4							
5356									1:16
5400			1:16						
5939									1:4
6410									1:8
6921			1:16						
7162									1:16
7216									1:16
7545	1:2								
113.386				1:2					
113.469	1:2								
113.507	1:2								
213.133		1:64							
254.823									1:8
254.863							1:2		
5933	1:1								
7698							1:2		
7746							1:2		

Tabelle I

Tabelle II:

Gefundene Anti-Inv(1) Seren und ihre Reaktionsbereitschaft mit den drei verschiedenen Anti-D-Inv(1) in Abhängigkeit von der Verdünnung der Probandenseren. Hinter dem schraffierten Kästchen in der 4. Spalte sind die Nummern der beiden jeweils reagierenden Anti-D-Seren angegeben.

Reaktion	Nur mit Anti-D-Inv 51702			Nur mit Anti-D-Inv 50003			Nur mit Anti-D-Inv 0003			Mit 2 Anti-D-Inv			Mit 3 Anti-D-Inv		
Serum Nr.	Nur 1:1	Nur 1:4	1:1 + 1:4	Nur 1:1	Nur 1:4	1:1 + 1:4	Nur 1:1	Nur 1:4	1:1 1:4	Nur 1:1	Nur 1:4	1:1 + 1:4	Nur 1:1	Nur 1:4	1:1 + 1:4
4427															
4847											5 1702 5 0003				
5015															1:64
5234															
5403											5 1702 0003				
6308															1:16
6849											5 1702 5 0003				
6872															1:16
7151															
113.423															
113.546															

Tabelle II

Tabelle III:

Prozentuale Häufigkeit spezifischer Antiglobuline in Abhängigkeit von der Zahl der zu ihrer Entdeckung benutzten Anti-D Testseren und von ihrer Titerhöhe.

Daneben Ergebnisse anderer Autoren.

Tabelle III

Kollektiv	Autor	Anti-Gm (1)	Zahl d. Anti-D	Titer	Anti-Inv. (1) in %
19.396	Ruffie et al. (37)	0,1	?	1:4	-
16.00	Ropartz et al. (34)	0,075	1	?	0,005
6.000	Audran (3)	0,08	?	≥ 1:8	-
2.600	Göhler (13)	0,07	?	≥ 1:4	-
333	Grubb (14)	0,3	1	?	-
1.678	Knoblich (20)	0	1	?	-
45.277	Ritter (30)	0,02	3	≥ 1:32	0,002
10.649	Herzog (16)	0,09	6	1:16	0,08
5.762	Herzog (16)	0,17	1	1:16	-
6.000	Mattée (23)	0,22	3	≥ 1:4	-
158	Hummel (18)	29,7	?	< 1:1	20,25
24.400	Wiebecke (50)	0,23	4	≥ 1:4	0,11
2.000	Eigene Ergebnisse	0,25	4	1:1	0,25
		0,2	4	1:4	0,15
		0,65	11	1:1	0,55
		0,5	11	1:4	0,15
		0,75	11	1:1 + 1:4	0,55

0,5 %

Tabelle IV:

Häufigkeit und Titerhöhe der gefundenen Antiantikörper, aufgeteilt in "Milgrom"- und Andresen-Typ. Daneben Ergebnisse anderer Autoren.

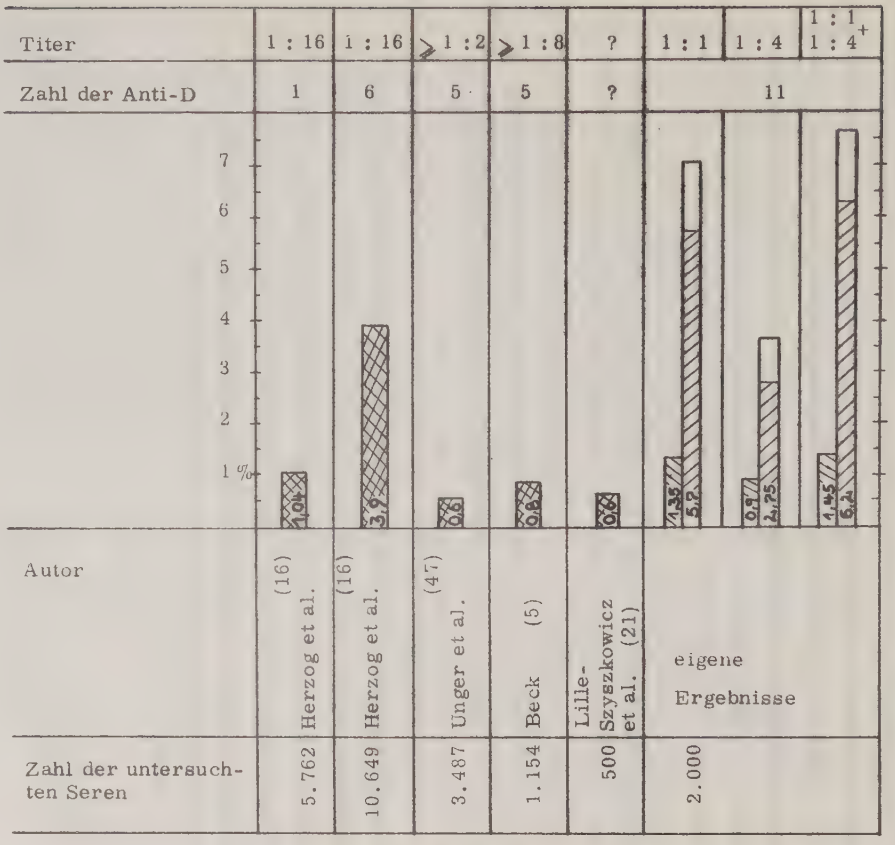


Tabelle IV

"Milgrom-Typ"

Andresen-Typ

ohne Unterscheidung zwischen Andresen- und "Milgrom"-Typ

"Milgrom"-und Andresen-Typ zusammen

Die Betrachtung der Titer der Anti-Inv-Seren erbrachte ähnliche Ergebnisse wie bei den Anti-Gm-Seren:
Die 4 Seren, die nur mit einem Anti-D reagierten, sowie die 3, die von 2 Anti-D entdeckt wurden, zeigten nur unverdünnt Agglutinationen. Von den 4 Anti-Inv, die von allen 3 Anti-D gleichzeitig gefunden wurden, hatten 3 einen Titer $>$ 1:8 (2 mal 1:16, 1 mal 1:64) und lediglich das Serum 7151 reagierte nur unverdünnt.

Zeigte ein Serum bei der Antikörpersuche Agglutinationen von + und mehr, und ließ es sich im anschließenden Hemmversuch durch das korrespondierende Anti-D-Serum nicht hemmen, so wurde es als Anti-antikörper deklariert. Hierzu wurden insgesamt 153 Seren gerechnet. Reagierte ein Antiglobulin mit allen der im Suchtest eingesetzten beladenen Erythrocyten, so wurde es dem "Milgrom-Typ" zugeordnet, andernfalls dem Andresen-Typ. Zu ersterem gehörten 29, das sind 1,45 % aller untersuchten Seren, zu letzterem 124, das sind 6,2 % (s. Tabelle IV). Von den 124 Antiantikörpern vom Andresen-Typ wurden 114 (5,7 % aller 2.000 untersuchten Seren) bei einer Serumverdünnung von 1:1 entdeckt, 10 (0,5 %) reagierten erst ab einer Verdünnung von 1:4 und 55 (2,75 %) hätten einen Titer $\geqslant$ 1:4.

Bei der Überprüfung des Steinberg-Speiser-Phänomens fanden sich folgende Ergebnisse:
Von 20 Müttern von Anti-Gm(1)-Trägern besaßen 17 den Phänotyp Gm(+1), 3 wiesen Gm(-1) auf. Im Inv-System wurde ein nahezu entgegengesetztes Verhalten festgestellt: Die Mütter von 14 Anti-Inv(1)-Trägern besaßen ohne Ausnahme den Phänotyp Inv(-1).

DISKUSSION

Die Angaben über die Häufigkeit spezifischer Antiglobuline bei Gesunden (SNagg) bewegen sich in der Literatur für Anti-Gm(1) zwischen 0,02 % (30) und 0,3 % (14) (s. Tabelle III). Die Ergebnisse von HUMMEL (18), bei deren Berücksichtigung sich eine weit höhere Differenz ergeben würde, sind darin nicht enthalten. Sie wurden mittels einer Technik erzielt, die von der anderer Autoren grundsätzlich verschieden ist. (Multipler Dosiseffekt). Ein Vergleich der in Tabelle III angeführten Häufigkeitsangaben der verschiedenen Autoren ist jedoch nur bedingt möglich, da entweder in den entsprechenden Arbeiten Angaben über die angewandte Methodik fehlen, oder aber mit verschiedener Methodik gearbeitet wurde.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen deutlich, daß die Resultate solcher Antiglobulinsuchteste abhängig sind von:

a) der Zahl der benützten Anti-D-Seren,
b) der Qualität der Anti-D-Seren,
c) der initialen Verdünnung der Probandenseren.

Würden die hier festgestellten Daten in der globalen Aussage zusammengefaßt: "Unter 2000 Seren anscheinend gesunder Spender wurden 15 Anti-Gm(1) und 11 Anti-Inv(1) vom SNagg-Typ gefunden", so zeigte die folgende Aufschlüsselung den relativen Wert einer solchen Feststellung. Wäre beispielsweise nur mit dem Anti-D-Gm(1) Nr. 615 nach Anti-Gm(1) gesucht worden, so wären nur etwas mehr als die Hälfte, nämlich 8 Anti-Gm(1) entdeckt worden. Anstatt 11 Anti - Inv (1) wären nur 5 gefunden worden, wenn anstelle der 3 Anti-D-Inv(1) nur mit dem Anti-D-Inv(1) Nr. 0003 gesucht worden wäre (s. Tabelle I und II).

Noch mehr als die Zahl der benützten Anti-D-Seren dürfte ihre Qualität für die Entdeckung der Antiglobuline eine große Rolle spielen.

Nach PROKOP (29) hängt diese Qualität und damit die Brauchbarkeit der Anti-D-Seren "von der Stärke ihrer Gm-Eigenschaft" ab. Das hieße, daß letztlich entscheidend ist, wieviele der betreffenden Anti-D-Moleküle die entsprechende Gm-Prägung aufweisen. (Dies würde auch die Tatsache erklären, daß der Anti-D-Titer für die Brauchbarkeit dieser Seren im Gm-Test nicht die wichtigste Rolle spielt).

Das wohl eindrucksvollste Experiment in dieser Richtung stammt von ANDRESEN (2). Er hat "mehr als 5000 Seren" von Patienten und Gesunden mit 50 verschiedenen Anti-D-Seren auf das Vorhandensein von Antiglobulinen untersucht und lediglich 1 Anti-Gm(1) als spezifischen Antikörper gefunden. Bei den Anti-D handelte es sich um unausgewählte Seren. Selbst unter Beachtung der Tatsache, daß er nur solche Seren berücksichtigte, deren Titer $\geqslant$ 1:8 war, ist dies eine extrem niedrige Frequenz (0, 02 %).

Inwieweit die initiale Verdünnung der Probandenseren von Bedeutung ist, zeigt folgende Betrachtung: Wäre unsere Anti-Gm(1)-Suche zwar mit beiden Anti-D-Seren, aber nur mit einem 1:4 verdünnten Probandenserum durchgeführt worden, so wären 6 der 15 Anti-Gm(1)-Seren nicht entdeckt worden (= 40 %).
Wäre umgekehrt nur mit unverdünnten Probandenseren gearbeitet worden, wären die beiden Antikörper 4221 und 213. 133, die in unverdünntem Zustand nicht reagierten, dem Nachweis entgangen. Wie Tabelle II zeigt, liegen auch bezüglich des Titers bei den Anti-Inv(1) Seren ähnliche Verhältnisse vor.

Weiterhin zeigen unsere Ergebnisse, daß von den 4 Anti-Inv(1), die mit allen 3 Anti-D reagiert haben, 3 einen Titer 1 : 16 hatten, die Titer aller anderen Anti-Inv(1), die entweder nur mit einem oder maximal mit 2 Anti-D reagierten, waren niedriger.

Die Tabelle I zeigt ein ähnliches Verhalten der Anti-Gm(1)-Seren. Dies ist eine Bestätigung der von ROPARTZ et al. (31) beschriebenen Beobach-

tung, nach der ein Antiglobulin mit einem hohen Titer auch von weniger geeigneten Anti-D-Seren festgestellt werden kann. Umgekehrt wird ein niedertitriges Antiglobulin von einem "potenten" Anti-D noch entdeckt werden.

SPEISER (41) berichtet, daß ihm Antiglobuline mit niedrigem Titer bei seinen Untersuchungen zunächst entgangen sind, da er, um einen Supplementeffekt auszuschalten, anfangs nur mit 1 : 4 und 1 : 10 verdünnten Probandenseren gearbeitet hat.

Daß es sich bei den niedertitrigen Seren auch tatsächlich um die gesuchten antikörperhaltigen Seren handelt und eine spezifische Agglutination nicht durch einen Supplementeffekt vorgetäuscht wird, läßt sich durch Testung gegen eine hinreichend große Zahl von Referenzseren mit genügender Sicherheit feststellen. Es ist somit auch gerechtfertigt, daß diese Seren bei Antikörper-Frequenzangaben mit berücksichtigt werden.

Über das Vorkommen von Antiantikörpern ist bisher wenig Zuverlässiges bekannt. Sie entstehen nach BÜTLER (7) als Autoantikörper und sind als solche im gesunden Organismus an der Eliminierung von Antigen-Antikörperkomplexen beteiligt, die im Zuge der täglichen immunologischen Auseinandersetzungen anfallen. Allein angesichts dieser Hypothese erscheint es interessant, über ihre Häufigkeit bei Gesunden näheres zu erfahren. Bei den wenigen, der Literatur zu entnehmenden Angaben (s. Tabelle IV) wurde eine Unterscheidung in Andresen- und "Milgrom-Typ" bisher von keinem Autor vorgenommen.

Bezüglich der Häufigkeit des Auftretens der Antiantikörper gilt das Gleiche, was bei den spezifischen Antikörpern erwähnt wurde. Sie werden häufiger entdeckt, wenn mit mehreren Anti-D gesucht wird. Dies geht ebenso, wie aus unseren eigenen Resultaten u. a. auch deutlich aus den Untersuchungen von HERZOG et al. (21) hervor. Er fand bei Untersuchungen mit 1 Anti-D 1,04 %, mit 6 Anti-D 3,9 % Antiantikörper. Diese Differenz ist hochsignifikant.

Da aus den o. e. Gründen ein Vergleich dieser verschiedenen Antiglobulinfrequenzen nicht sinnvoll ist, soll dabei von unseren, mit gleichen Anti-D-Seren und gleicher Methodik erzielten Daten ausgegangen werden. Als Wesentlichstes fiel auf, daß eine deutlich größere Zahl unspezifischer als spezifischer Antiglobuline gefunden wurde. Daneben imponierten die "Milgrom-Antiantikörper" gegenüber den Antiantikörpern vom Andresen-Typ als "stärkere" Antikörper mit höheren Titern. Dies ergibt sich aus folgender Zahlenanalyse:
Wären nur die Antiglobulinseren mit einem Titer $\geqslant$ 1 : 4 berücksichtigt worden, so hätte sich das Endergebnis für die "Milgrom-Antiantikörper" lediglich um 0,45 % von 2000 Seren vermindert. Unter gleichen Voraussetzungen hätte der "Verlust" der Andresen-Antiantikörper dagegen ein Mehrfaches davon, nämlich 2,95 % von 2000 Seren betragen.

2. Entstehung der spezifischen Antigammaglobuline

1963 veröffentlichte SPEISER (40) eine Arbeit, in der er sich mit dem Thema der Entstehung spezifischer Antigammaglobuline auseinandersetzte. Er beschrieb darin 10 Mutter-Kind-Paare, wobei die Mütter der 10 Anti-Gm(1) Träger mit einer Ausnahme in ihrem Serum den Faktor Gm(1) aufwiesen.

Die gleichen Zusammenhänge waren mit kurzem zeitlichen Vorsprung von STEINBERG und WILSON (46) beobachtet worden. Sie hatten ebenfalls 8 Anti-Gm(1)-Träger beschrieben, deren Mütter bis auf eine Ausnahme den Faktor, gegen den das Kind einen Antikörper gebildet hatte, besaßen.

Beide Arbeitsgruppen zogen aus diesen Beobachtungen die Folgerung, daß mütterliches Gammaglobulin, welches via Placenta auf den Foeten übertritt, bei diesem die Antiglobulin-Bildung verursacht. Sie beschrieben damit eine völlig neue Gesetzmäßigkeit.

Bekanntlich sind die mütterlichen Gammaglobuline als Träger der Gm-Gruppen im Stande, durch die Placentar-Schranke in den foetalen Kreislauf zu gelangen. Ihre physiologische Aufgabe besteht in dem immunologischen Schutz des Neugeborenen, da dieser erst ab dem 3. Monat beginnt, eigene Immun-Antikörper zu bilden. Gelangt nun Gm(+1) geprägtes mütterliches Gammaglobulin in den Kreislauf eines Foeten, der dem Phänotyp Gm(-1) angehört, so kann im foetalen Organismus die Bildung korrespondierender Antikörper induziert werden.

Eine Überprüfung dieses Phänomens anhand der eigenen Resultate ergibt folgendes Bild: Wie bereits erwähnt, besaßen 17 der Mütter unserer 20 Anti-Gm(1)-Träger den Faktor Gm(1), die restlichen 3 waren Gm(-1). Es stellt sich nun die Frage, ob eine solche Verteilung der mütterlichen Phänotypen zufällig zustande gekommen sein kann, oder ob ihr eine Gesetzmäßigkeit im Sinne Steinbergs und Speisers zugrunde liegt.

Zur Klärung dieser Frage dient folgende Ausschlußüberlegung anhand von beobachteten und erwarteten Werten: Da Anti-Gm(1)-Träger ihrem Gentoyp nach $Gm^{(-1)}$. $Gm^{(-1)}$ sein müssen, muß in der Genkonstellation der Mutter mindestens ein $Gm^{(-1)}$ existieren. Bestünden nun die von Steinberg und Speiser aufgezeigten Zusammenhänge nicht, und hätten die Autoren ihre Theorie auf rein zufällige Beobachtungen gegründet, so entspräche die Wahrscheinlichkeit, mit der das zweite Gen $Gm^{(1)}$ bzw. $Gm^{(-1)}$ wäre, den normalen Frequenzen für diese Gene. Diese sind für die hiesige unterfränkische Population 0.2712 bzw. 0.7288. Von den 20 Müttern müßten bei Vorliegen einer normalen Verteilung mithin etwa 27 % Gm(1) positiv sein, die restlichen 73 % Gm(1) negativ. Dieses Verhältnis berücksichtigt allerdings noch nicht die zufallsbedingten Streuungen. Das Vertrauensintervall mit 99 %iger statistischer Sicherheit liegt unter Annahme einer binomialen Verteilung bei einem Kollektivumfang von N = 20 für eine 27 %ige Erwartung zwischen 6,92 % und 58,08 % (12).

Da wir mit 85 % Gm(1) positiver Mütter einen Wert gefunden haben, der weit außerhalb dieser statistischen Vertrauensgrenzen liegt, ergibt sich als Folgerung mit mehr als 99 % Wahrscheinlichkeit, daß Steinberg und Speiser ihre Feststellung nicht auf zufällig gefundene Ergebnisse begründet haben.

Eine ebenso deutliche Aussage zur Gültigkeit des Steinberg-Speiser-Phänomens wurde von WIEBECKE und BLENNEMANN (51) veröffentlicht. Sie fanden bei 31 kindlichen Anti-Gm(1)-Trägern 90, 3 % Mütter mit der Serumeigenschaft Gm(+1). Auch hier zeigte die gleiche Ausschlußüberlegung, daß ein gesetzmäßiger Zusammenhang zwischen dem Vorkommen der Anti-Gm-Antiglobuline beim Kind und dem Gm-Faktor des mütterlichen Serums besteht.
Die beiden Mütter von zwei Anti-Inv(1)-Trägern wiesen dagegen den Phänotyp Inv(-1) auf.

Zweifellos steht die von Steinberg und Speiser dargelegte Gesetzmäßigkeit im Widerspruch zu Burnet's "Clonal Selection Theory of Acquired Immunity" (8). Diese besagt bekanntlich, daß ein Individuum nur gegen jene Antigene Antikörper bilden kann, mit denen es während seiner Entwicklung in utero nicht in Berührung gekommen ist. Die immunologisch kompetenten Zellen für jedes mögliche Antigen liegen bereits beim Foeten vor und bilden auch schon während ihres Heranreifens die spezifischen Antikörper gegen das "zuständige" Antigen, die aber die Zelle nicht verlassen. Trifft während dieser Entwicklung ein Antigen auf die korrespondierende Zelle, so geht diese zugrunde und das Individuum kann gegen dieses Antigen zeitlebens keine Antikörper mehr bilden.

Hierzu führte SPEISER (40) folgende Erklärung an:
Da bekannt ist (17, 52), daß schon in der 11. - 12. Foetalwoche mütterliches Gamma-2-Globulin in der Frucht zirkuliert, bleibt lediglich die Möglichkeit, daß die immunologisch kompetenten Zellen zu diesem Zeitpunkt ihre Reifung schon hinter sich haben und damit aus der Phase

ihrer "Vulnerabilität" herausgetreten sind. Diese Vorstellung ist umso weniger von der Hand zu weisen, als man weiß, daß die Entwicklung der erblichen Blutkörperchenmerkmale (Antigene) schon bei 6 - 7 Wochen alten Foeten weit fortgeschritten ist (SPEISER, 44).

Wie bereits mitgeteilt, wurden Anti-Gm(2) und Anti-Gm(5) bei unserer Untersuchung nicht gefunden. Davon ausgehend, daß auch für diese beiden Antigammaglobulin - Gruppen die Bildung nach dem Steinberg-Speiser-Mechanismus erfolgt, könnten mehrere Ursachen für das seltene Vorkommen diskutiert werden. Zum ersten sind die formalgenetischen Voraussetzungen (Mutter Gm(-5) . Gm(5), Kind Gm(-5) . Gm(-5)) infolge der andersartigen Genverteilung hierfür wesentlich ungünstiger. Zum zweiten könnten die verschiedenen Gm-Faktoren eine unterschiedliche Antigenität besitzen. Zum dritten sieht SPEISER (41) hierin einen "Quantitätseffekt". Er weist in Übereinstimmung mit MARTENSSON und FUDENBERG (22) darauf hin, daß ein Träger des Phänotyps Gm (1) prozentual mehr Gm(1) geprägte Gammaglobuline besitzt, als z. B. ein Träger des Phänotyps Gm(5) Gammaglobuline, die durch Gm(5) geprägt sind. Alles zusammen hat natürlich eine erheblich geringere Anzahl von kindlichen Sensibilisierungen und damit Antikörperbildungen zur Folge.

Wie die bisher mitgeteilten Ergebnisse zeigen - 3 Mütter von unseren Anti-Gm(1)-Trägern wiesen den Phänotyp Gm(-1) auf -, lassen aber nicht alle entdeckten SNagg-Antiglobuline ihren Entstehungsmechanismus durch das Steinberg-Speiser-Phänomen erklären.
Dafür sprechen u. a. auch die Ergebnisse von HUMMEL (18):
Mit Hilfe seiner Multipel-Dosis-Methode konnte er bei 26, 6 % der von ihm getesteten Normalpersonen ein Anti-Gm(1) feststellen. Da aber die typische Mutter-Kind-Konstellation, die eine Antikörper-Bildung nach Steinberg und Speiser zuläßt, z. B. in der Population von Unterfranken nur in etwa 14, 4 % der Fälle erwartet werden kann (Genfrequenz: $Gm^{(-1)^2} \cdot Gm^{(1)} = 0,7288^2 \times 0,2712 = 0,144$) müssen noch andere Antikörperbildungsmöglichkeiten in Frage kommen.

So wäre möglicherweise in einem der von uns untersuchten Fälle das Vorhandensein eines Anti-Gm(1) durch vorausgegangene Transfusionen zu erklären. Eine solche Erklärung fanden STEINBERG und WILSON (46) für eines der acht von ihnen beschriebenen Mutter-Kind-Paare, bei dem die Mutter nicht den Faktor besaß, gegen den das Kind Antikörper gebildet hatte. Auch aus der Literatur ist bekannt, daß spezifische Antigammaglobuline im Gefolge einer parenteralen Verabfolgung von Gammaglobulinen in reiner Form oder nach Transfusionen von Blut, Plasma oder Serum entstehen können (4, 10, 11, 26, 40). Dabei ist beim Menschen die Fähigkeit, auf einen solchen antigenen Reiz in entsprechender Form zu reagieren dispositions- und dosisabhängig (19). Noch nicht ausdiskutiert ist die Frage, in wieweit ein zusätzlicher antigener Stimulus in bestimmten Krankheiten zu suchen ist, z. B. Thalassaemia major (36, 48).

Neben einer Sensibilisierung des Organismus durch parenteral verabfolgtes Gammaglobulin muß aber auch folgende Möglichkeit in Betracht gezogen werden: BROCTEUR et al. (6) wiesen 1965 auf die weite Verbreitung der Gm(1)-Substanz hin, die sie z. B. im Hausstaub nachgewiesen haben. Dieser könne möglicherweise nach Inhalation eine Immunreaktion auslösen. Nach HUMMEL (18) könnten die auslösenden Antigene aus verschiedenen Körpersekreten wie Speichel, Tränenflüssigkeit oder Schweiß stammen. In diesem Zusammenhang sind die Beobachtungen von ROPARTZ et al. (26) und SPEISER (41) von Interesse. Sie fanden, daß die Häufigkeit von Anti-Gm-Trägern und die Titerhöhe dieser Antikörper im Alter wieder zunehmen. Die Ursache hierfür könnte darin zu suchen sein, daß der chronisch immunologische Konflikt mit diesen Antigenen zur Produktion von Anti-Gm-Antiglobulinen führt.

Zur Erklärung der Anti-Inv-Entstehung kann der Steinberg-Speiser-Mechanismus offensichtlich nicht herangezogen werden: Alle 14 Mütter unserer Anti-Inv-Träger besaßen die Serumeigenschaft Inv(-1). Eine

weitere experimentelle Untermauerung dieser Feststellung bietet eine Untersuchung von WIEBECKE und BLENNEMANN (51). Sie untersuchten die Seren von 834 Kindern im Alter von 7 Monaten bis 14 Jahren und stellten dabei fest, daß Anti-Inv-Antikörper bei Kindern in nahezu der gleichen Häufigkeit vorkommen wie bei Erwachsenen (Verhältnis Kinder : Erwachsene = 1,6 : 1). Im Gm-System dagegen kamen auf 14,5 kindliche Anti-Gm-Träger 1 Erwachsener mit diesem Antikörper. Auch Speiser selbst vermutet inzwischen, daß hier eine andere Genese zu suchen sei (42).

Aber auch eine postpartale Immunisierung scheint als Ursache für die Anti-Inv-Entstehung auszuscheiden. Dafür sprechen insbesondere die Ergebnisse von ALLEN und KUNKEL (1). Die Autoren hatten bei 60 % von multitransfundierten Kindern Anti-Gm-Antiglobuline entdeckt, fanden aber in keinem einzigen Fall ein Anti-Inv.

Es muß somit angenommen werden, daß kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Anti-Inv-Antiglobulinen und einer vorausgegangenen Immunisierung besteht, sei es postpartal oder auf materno-foetalem Wege. Anti-Inv-Antiglobuline wären somit als sog. "natürliche Antikörper" mit spontaner Genese anzusehen.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden 2000 Seren anscheinend gesunder Blutspender auf das Vorhandensein von Anti-Gm und Anti-Inv-Antiglobulinen sowie von Antiantikörpern untersucht.

Um den Einfluß methodischer Variationen auf das Ergebnis einer solchen Untersuchung festzustellen, wurden die Antikörper-Suchteste mit mehreren Anti-D-Seren durchgeführt. Daneben wurden alle Probandenseren in zwei Verdünnungen untersucht.

Dabei fanden sich insgesamt 15 Anti-Gm(1) (0, 75 %) und 11 Anti-Inv(1) (0, 55 %). Ferner wurden 153 Anti-Antikörper entdeckt (7, 65 %), die als Anti-Antikörper vom "Milgrom"- bzw. Andresen-Typ weiter unterteilt wurden.

Nach Vergleich der Ergebnisse, die erzielt worden wären, wenn nur in einer Verdünnung bzw. wenn nur mit 4 Anti-D-Seren gearbeitet worden wäre, zu den o. g. Ergebnissen, wurde folgende Feststellung getroffen:

Die Ausbeute an Antigammaglobulinen erhöht sich, wenn

a) mit mehreren geeigneten Anti-D-Seren (11)
b) mit verschiedenen Verdünnungen der Probandenseren (1:1 und 1:4)

untersucht wird. Die Ergebnisse werden den aus der Literatur bekannten Angaben gegenübergestellt.

Im II. Teil der Arbeit wurde anhand von 34 erwachsenen Mutter-Kind-Paaren das sogenannte Steinberg-Speiser-Phänomen überprüft, demzufolge die Bildung spezifischer Anti-Gammaglobuline als Folge einer materno-foetalen Sensibilisierung anzusehen ist. Für die Entstehung von Anti-Gm(1)-Antiglobulinen konnte dieser Mechanismus mit hoher Signifikanz bestätigt werden. Für Anti-Inv-Antiglobuline ist dies nicht der Fall. Mögliche weitere Entstehungsursachen der Anti-Gammaglobuline werden diskutiert.

G. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALLEN, J. C., H. G. KUNKEL: Antibodies against gamma-globulin after repeated blood transfusions in man. J. of Clin. Invest. 45, 29-39 (1966)

2. ANDRESEN, P. H.: Relation between anti-antibodies and Gm-agglutinins. Transfusion 3, 211-213 (1963)

3. AUDRAN, R., J. M. FINE: Nature biochemique du support de láctivite Anti-Gm du serumde certains sujets normaux. 8. Kongreß Europ. Hämatol., Wien (1961)

4. AUERSWALD, W., J. BODIS-WOLLNER, E. KIESEWETTER, D. MICKERTS, P. SPEISER: Zur Frage der Antikörperbildung Erwachsener gegen Gm nach wiederholter parenteraler Zufuhr von homologem Gammaglobulin. Wiener Med. Wschr. 117 Nr. 45/67 1006-1008

5. BECK, J. S.: Some properties of human anti-antibody. Brit. J. Exper. Pathology 42, 7-14 (1961)

6. BROCTEUR, J., R. VERSIE, P. MOUREAU: Présence de gamma-globulines humaines dans des préparations d'allergènes de poussière de maison. C. R. Soc. Belg. Biol. 159, 2090-2093 (1965)

7. BÜTLER, R.: Bericht 13. Tagung der Dtsch. Ges. Blut-Transfusion, Graz 1968

8. BURNET, F. M.: The clonal selection theory of acquired immunity, Cambridge 1956

9. CEPPELINI, R., S. DRAY, J. L. FAHEY, E. C. FRANKLIN, H. FUDENBERG, P. G. GELL, H. C. GOODMAN, R. GRUBB, M. HARBOE, R. L. KIRK, J. OUDIN, C. ROPARTZ, C. SMITHIES, A. G. STEINBERG und Z. TRNKA: Nomenklatur der genetisch determinierten Merkmale der menschlichen Immunglobuline. Humangenetik 2, 317-322 (1966)

10. FUDENBERG, H. H., B. R. FUDENBERG: Antibody to Hereditary Human Gamma-Globulin (Gm) Factor Resulting from Maternal-Fetal Incompatibility. Science 145, 170-171 (1964)

11. FÜNFHAUSEN, G., B. SCHNEEWEISS: Über die unterschiedliche Häufigkeit von Anti-Gm in verschiedenen Lebensaltern. Zschr. ärztl. Fortbild. (Jena) 57, 123-124 (1963)

12. GEIGY: Wissenschaftliche Tabellen

13. GÖHLER, W., W. DÜRWALD, H. HUNGER: Gm-Frequenzen und Verwertbarkeit des Gm-Systems in Paternitätsgutachten. Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 53, 122 (1963)

14. GRUBB, R.: Agglutination of erythrocytes coated with "incomplete" anti-Rh by certain rheumatoid arthritic sera and some other sera. The existence of human serum groups. Acta path. microbiol. Scand. 39, 195 (1956)

15. GRUBB, R., A. B. LAURELL: Hereditary serological human serum groups. Acta Path. et Microbiol. Scand. 39, 390-398 (1956)

16. HERZOG, P., A. DRDOVA: Anti Gm-Sera and Gm(x)factor in the district of Prague. Vox. Sang. 9, 356-358 (1964)

17. HITZIG, W. H.: Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963

18. HUMMEL, K.: Über das Vorkommen normaler und immuner Gm und Inv Antikörper. Bericht über die 5. Tagung der Arbeitsgemeinschaft der Blutgruppensachverständigen, Würzburg 1967.

19. ILYES, M., M. KOLTAY, D. MICKERTS, V. PAUSCH: Untersuchungen der Gammaglobulin-Allotypen und -Isoimmunkörper in Verbindung mit der Gammaglobulintherapie bzw. -prophylaxe.

20. KNOBLICH, K. J.: Untersuchungen über die Häufigkeit von Anti-Gm(a)-Seren. Inaug. -Dissertation aus dem Institut für Gerichtl. Med. der Universität Bonn (1964)

21. LILLE-SZYSZKOWICZ, A. GULMANTOWICZ: A further case of a human serum containing "Anti-Antibodies". Vox Sang. 3, 100-107 (1958)

22. MARTENSSON, L., H. H. FUDENBERG: Gm Genes and Gamma-G-Globulin Synthesis in the Human Fetus. J. Immunol. 94, 514 (1965)

23. MATTEE, C., J. MOULLEC, R. AUDRAN: Recherche des sérums anti-Gm chez les sujets normaux. Transfusion 4, 39-46 (1961)

24. MILGROM, F., S. DUBISKI, G. WOZNICZKO: Human sera with "Anti-Antibody". Vox Sang. 1, 172-183 (1956)

25. NOELKEN, M. E., C. A. NELSON, C. E. BUCKLEY III and C. TRANFORD: Gross Conformation of Rabbit 7-S-Immunglobulin and its Papain-cleaved Fragments. J. of Biolog. Chemistry 240, 218-224 (1965)

26. OSTERLAND, C. K., M. HARBOE, H. G. KUNKEL: Anti-gamma-globulin factors in human sera revealed by enzymatic splitting of anti-Rh antibodies. Vox Sang. 8, 133-152 (1963)

27. PORTER, R. R.: The structure of γ-globulines and antibodies. In: Symposion on basic problems in neoplastic disease. Columbia University Press. New York N. Y. 1962

28. PROKOP, O.: Tagung Dtsch. Ges. Gerichtl. Med. Bonn 1953

29. PROKOP, O., G. UHLENBRUCK: Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen. Edition Leipzig 1966

30. RITTER, H., E. SCHMIDTMANN: l .s Anti Inv-1-Rie. Humangenetik 1, 123-125 (1964)

31. ROPARTZ, C., L. RIVAT, P. Y. ROUSSEAU: Les antiglobulines humaines. Leur spécificité, leur fréquence et les mécanismes probables de leur apparition. Nouv. Rev. Franc. d'Hemat. 4, 803-824 (1964)

32. ROPARTZ, C., J. LENOIR, L. RIVAT: A new inheritable property of human sera, the InV Factor. Nature 189, 586 (1961)

33. ROPARTZ, C., H. H. FUDENBERG, L. RIVAT, P. Y. ROUSSEAU, J. P. LEBRETON: Un troisième locus participant à la synthèse des γG: l'Isf. Rev. Franc. Etudes Clin. et. Biol. 12, 267-269 (1967)

34. ROPARTZ, C., J. LENOIR, L. RIVAT: Les sérums anti-Gm(a), anti-Gm(x) et anti-Inv trouvés chez des individus sains. Proc. 8th. Congr. int. Soc. Blood Transf., Tokyo 1960 pp. 401-404 (1962)

35. ROPARTZ, C., P. Y. ROUSSEAU and L. RIVAT: Essai d'interprétation quantitative de qualités des réactifs anti-Gm. Rev. Franc. Etudes clin. et Biol. 6, 591-596 (1961)

36. ROPARTZ, C., A. VIERUCCI, L. RIVAT et P. Y. ROUSSEAU: Présence Simultanée d'un Anti-Gm et d'un Anti-Inv chez un polytransfusée. Rev. Franc. Etudes Clin. et Biol. IX, 977-978 (1964)

37. RUFFIE, J. J. DUCOS, M. VARSI: Nature et fréquence des anti-corps du système Gm dans les populations du Haut Languedoc. Comptes Rendus Société de Biologie 155, 1591-1594 (1961)

38. SANDER, I., E. STICHNOTH: Anti Gm Bildung bei Säuglingen und Kleinkindern. Blut IX, 102-103 (1963)

39. SPEISER, P.: Antikörperbildung von Kindern gegen die Gm-Gruppe ihrer Mütter (weitere Beobachtungen). Proc. 10th Congr. int. Soc. Blood Transf. Stockholm 1964, pp. 427-433 (1965)

40. SPEISER, P.: Über Antikörperbildung von Säuglingen und Kleinkindern gegen mütterliches Gamma-2-Globulin. Ein bisher unbekanntes, dem Erythroblastosemechanismus konträres Phänomen mit anscheinend immunogenetisch obligatem Charakter. Wien. Med. Wschr. 113, 51/52,966 (1963)

41. SPEISER, P.: Ist die kindliche Immunkörperbildung gegen mütterliches Gamma-Globulin ein obligater Mechanismus? Forschungsergebnisse der gerichtlichen Medizin. Festschrift Elbel 1967.

42. SPEISER, P.: Persönliche Mitteilung an Wiebecke, D.

43. SPEISER, P., D. MICKERTS: Beobachtungen über gehäuftes Auftreten von Anti Gm(a) bei bis zu 2 Jahre alten Kindern nebst Untersuchungen über Antigenverwandschaft zwischen Gm(a) und Gm(x) mit Pocken-, BCG- und Poliomyelitisantigenen. Blut 10, 425 (1964)

44. SPEISER, P.: Wien. Klin. Wschr. 71 (1959) S. 549

45. STEINBERG, A. G.: Studies on the Gm factors: Comparison of the agglutinators in serum from patients with rheumatoid arthritis and in serum from healthy donors. Arthritis and Rheumatism 5, 331-340 (1962)

46. STEINBERG, A. G., J. WILSON: Hereditary globulin factors and immune tolerance in man. Science 140, 303-304 (1963)

47. UNGER, L. J., A. S. WIENER, L. KATZ: Studies on antibodylike substance in certain human serums, causing agglutination of red cells coated with Rh_0 antibody. Amerc. J. Clin. Pathol. 29, 113-119 (1958)

48. VIERUCCI, A.: Gm-groups and Anti-Gm-antibodies in children with Cooley's Anaemia. Vox Sang. 10, 82 (1965)

49. WALLER, M. V. and J. H. VAUGHAN: Use of anti-Rh sera for demonstrating agglutination activating factor in rheumatoid arthritis. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 92, 198 (1956)

50. WIEBECKE, D.: Experimentelle Untersuchungen über verschiedene menschliche Antigammaglobuline und ihre korrespondierenden Antigendeterminanten. Habilitationsschrift. Würzburg (1968)

51. WIEBECKE, D. und H. BLENNEMANN: Über Vorkommen und Entstehung spezifischer Antigammaglobuline bei Kindern verschiedener Altersstufen. Untersuchungen zum Steinberg-Speiser-Phänomen. Wiener Med. Wschr. 41, 859-863 (1968)

52. WÜHRMANN, F. und H. H. MURKI: Dysproteinämien und Paraproteinämien Basel - Stuttgart 1963.

Herrn Privatdozenten Dr. med. D. Wiebecke danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für seine stete Hilfsbereitschaft während der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. med. E. Kern spreche ich für die Übernehme des Korreferates meinen ergebenen Dank aus.

Lebenslauf

Am 1. Juli 1941 wurde ich als drittes von fünf Kindern der Eheleute Paul und Käthe Fietzek, geb. Bensberg, in Berlin geboren, wo mein Vater als kaufmännischer Direktor bei der Firma Daimler-Benz AG tätig war.

Nach mehreren Umzügen, bedingt durch die Kriegs- und Nachkriegssituation, wurde ich im Herbst 1948 in Gandenitz, Krs. Templin (Uckermark) eingeschult. Nach der Übersiedlung in die Bundesrepublik im Jahr 1949 besuchte ich drei weitere Volksschulen, bis ich 1952 in das Städt. Humanistische Gymnasium in Brühl bei Köln eintrat.

Nach bestandenem Abitur studierte ich seit dem Sommersemester 1962 an der Julius-Maximilians-Universität in Würzburg Humanmedizin. Im Februar 1965 legte ich hier die ärztliche Vorprüfung ab und ging in den beiden ersten klinischen Semestern an die Hamburger Universität. Ich besuchte dort mit besonderem Interesse Vorlesungen und Kurse am Tropenmedizinischen Institut. Nach dem Tod meines Vaters kehrte ich 1966 nach Würzburg zurück und bestand hier im Juli 1968 das Medizinische Staatsexamen.

Als Medizinalassistent arbeitete ich vier Monate in der Universitäts-Frauenklinik in Würzburg, neun Monate auf der Chirurgischen Abteilung im Städt. Krankenhaus Schweinfurt und vier Monate auf der Inneren Abteilung des Paracelsus-Krankenhauses in Ruit bei Stuttgart. An diesem Hause stehe ich seit Erhalt der Approbation im Januar 1970 in der Ausbildung zum Facharzt für Chirurgie.

Michael Fietzek